

УДК 616-006:616-076
<https://doi.org/10.17816/MAJ19281>

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА В ОНКОЛОГИИ: НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ

Е.Н. Имянитов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова»
Минздрава России, Санкт-Петербург;
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Имянитов Е.Н. Молекулярная диагностика в онкологии: новые тенденции // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 4. – С. 25–32. <https://doi.org/10.17816/MAJ19281>

Поступила: 15.10.2019

Одобрена: 06.11.2019

Принята: 27.11.2019

Молекулярная диагностика стала неотъемлемым компонентом современной клинической онкологии. К наиболее известным направлениям этой области медицины относятся усилия, направленные на диагностику наследственных опухолевых синдромов, а также выявление соматических мутаций, ассоциированных с чувствительностью новообразований к ингибиторам протеинкиназ. Развитие знаний о механизмах развития неоплазм, а также создание новых технологий формируют новые тенденции в молекулярной диагностике рака. Наиболее заметным явлением как в биомедицине вообще, так и в онкологии в частности стало внедрение секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS). Использование NGS позволяет многократно повысить эффективность и доступность диагностики наследственного рака, а также выполнять мутационное профилирование опухолей с целью персонализированного подбора терапии. Опухоли значительно видоизменяют свои свойства в процессе лечения, поэтому мониторинг биологического портрета новообразования представляет крайне важную задачу. В зависимости от результатов мониторинга и динамики молекулярного портрета трансформированных клеток появляется возможность назначения новых лекарственных препаратов. Важным инструментом в этом отношении является так называемая жидкостная биопсия, позволяющая анализировать существенные характеристики опухоли без применения инвазивных процедур. Большую популярность получили персонализированные *ex vivo* модели карцином. Они подразумевают культивирование опухолевых клеток и выполнение тестов на лекарственную чувствительность с целью индивидуального подбора противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: молекулярная диагностика; онкология; наследственность.

MOLECULAR DIAGNOSTICS IN ONCOLOGY: NEW TRENDS

E.N. Imyanitov

N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology, Saint Petersburg, Russia;
Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Imyanitov EN. Molecular diagnostics in oncology: new trends. *Medical Academic Journal*. 2019;19(4):25-32. <https://doi.org/10.17816/MAJ19281>

Received: October 15, 2019

Revised: November 6, 2019

Accepted: November 27, 2019

Molecular diagnostics is a mandatory component of modern clinical oncology. The most known examples of molecular diagnostic procedures include the detection of hereditary cancer syndromes and the analysis of somatic drug-sensitizing mutations in protein kinases. Advances in cancer research as well as the development of new technologies led to emergence of new trends in this area of medicine. The invention of next generation sequencing (NGS) has a potential to dramatically change the landscape of molecular diagnostics. NGS allows to significantly improve the efficiency and availability of genetic testing for hereditary cancers as well as to undertake comprehensive tumor mutation profiling to guide the therapy choice. Tumors usually change their properties during therapeutic intervention. Monitoring of these properties is important for proper selection of further treatment options. So-called “liquid biopsy” is essential for this purpose, as it allows to detect key molecular features of the tumors by a non-invasive approach. There is an increasing popularity of *ex vivo* tumor models, which allow to cultivate tumor cells and to select the therapy based on the results of drug sensitivity tests.

Keywords: molecular diagnostics; oncology; heredity.

Введение

Онкология является одним из главных полигонов для испытания и внедрения методов молекулярной медицины. Существует несколько

факторов, обуславливающих востребованность трансляционных исследований именно в контексте диагностики и лечения рака.

Список сокращений

NGS — секвенирование нового поколения; EGFR — эпидермальный фактор роста.

Во-первых, злокачественные опухоли — одна из немногих патологий человека, которая практически всегда возникает вследствие накопления соматических мутаций. Соответственно, эти мутации служат объектом для фундаментальных исследований, а также мишенью для медицинских вмешательств. Во-вторых, сам по себе диагноз злокачественного новообразования подразумевает верификацию со стороны морфолога. Таким образом, в распоряжении специалистов имеется биологический материал опухоли, полученный от каждого онкологического пациента. Подобная доступность патологически измененных тканей является уникальной особенностью онкологии, обеспечивающей высокую информативность исследований в данной области медицины. В-третьих, если проанализировать спектр наследственных заболеваний человека, то именно семейные опухолевые синдромы занимают лидирующие позиции в этом списке. Прогресс в медицинской генетике в значительной мере определяется успехами в изучении предрасположенности к онкологическим заболеваниям. И наконец, следует признать, что само слово «рак» ассоциируется с неблагоприятным прогнозом заболевания — несомненно, даже с учетом всех этических аспектов врачебной деятельности рамки применения экспериментальных подходов в онкологии несколько шире, чем в других областях клинической медицины [1–4].

Молекулярная диагностика составляет неотъемлемый компонент обследования онкологических больных. Наиболее заметным практическим успехом в молекулярной онкологии стало формирование системы медицинских мероприятий для пациентов с наследственным раком. Гены, ответственные за основные семейные опухолевые синдромы — наследственный рак молочной железы и яичников, наследственный рак толстой кишки и эндометрия (синдром Линча), наследственный полипоз толстой кишки, синдром Ли – Фраумени и т. д., — были открыты еще в середине 1990-х годов. Этот успех медицинской генетики позволил организовать эффективную диагностику семейных опухолевых синдромов. Появились способы обнаружения здоровых носителей «раковых» мутаций, ассоциированных с фатальной предрасположенностью к той или иной разновидности новообразований. Соответственно, были разработаны мероприятия по ранней диагностике рака в группах риска, а также сформирована идеология профилактических операций. В конце прошлого десятилетия появились сведения о необычном спектре лекарственной чувствительности на-

следственных опухолей. В настоящее время разработан целый арсенал терапевтических средств, позволяющих эффективно лечить некоторые разновидности наследственных новообразований молочной железы, яичника, предстательной железы, толстой кишки, щитовидной железы, мозга и т. д. [4, 5]. Прорывом в трансляционной онкологии стало практически случайное обнаружение мутаций, ассоциированных с изменением конформации протеинкиназы и, как следствие, с избирательной чувствительностью мутированных онкобелков к отдельным лекарственным препаратам. В настоящее время в практической онкологии рутинно применяют тесты, направленные на анализ мутаций в генах *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*, *MET* и т. д. При помощи таргетных препаратов, специфичных в отношении перечисленных киназ, удалось многократно улучшить результаты лечения отдельных категорий пациентов с раком легкого, меланомой, некоторыми другими опухолями. В целом диагностику соматических мутаций в новообразованиях можно рассматривать как отдельный компонент обследования онкологических пациентов [4]. Перечисленные выше достижения успешно используют в клинической онкологии — они уже вошли в стандарты медицинской помощи практически во всех странах мира. В настоящем обзоре мы попытаемся отразить новые тенденции в молекулярной диагностике рака, которые, скорее всего, станут главными направлениями трансляционной онкологии в предстоящем десятилетии.

Секвенирование нового поколения

Разработка и внедрение секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) представляет одно из главных достижений биомедицинской науки последних десятилетий. Суть NGS заключается в многократном прочтении случайных фрагментов ДНК-матрицы. Последующая компьютерная сборка проанализированных фрагментов помогает воссоздать исходную последовательность ДНК, которая подвергалась анализу. Исключительной особенностью секвенирования нового поколения является огромная производительность: например, стандартное оборудование для NGS позволяет в течение нескольких дней «прочитать» полный геном человека [6, 7]. С помощью NGS можно анализировать не только индивидуальные геномы, но и выполнять интегративные аналитические процедуры. В частности, NGS применяют для индивидуальной характеристики микроорганизмов, населяющих кишечник [8, 9].

Многочисленные прочтения обеспечивают необычайную чувствительность NGS — этот метод позволяет выявлять единичные мутированные копии генов, присутствующие в окружении избытка нормальных последовательностей ДНК, в частности, обнаруживать следовые количества опухолевых клеток [10]. Наиболее очевидное применение NGS — анализ генома человека с целью диагностики наследственных заболеваний [11]. Секвенирование нового поколения стало мощным инструментом идентификации новых генов, ассоциированных с наследственными патологиями. Полный анализ кодирующей части генома — так называемое полноэкзомное секвенирование — является неотъемлемым компонентом обследования пациентов с признаками генетических аномалий, у которых причину заболевания не удалось установить стандартными методами лабораторного анализа.

В то время как полноэкзомное секвенирование представляется предпочтительным методом для выявления новых геномных нарушений, например для научно-исследовательской работы, в практической медицине более популярно секвенирование мультигенных панелей. В частности, огромное количество наследственных болезней характеризуется наличием фенокопий — таким термином описывают явление, когда один и тот же фенотип может вызываться мутациями в различных генах. Еще несколько лет назад генетическое обследование пациентов с подобными заболеваниями предусматривало последовательный анализ всех генов, причастных к подозреваемой патологии. Подобная процедура занимала несколько месяцев и отличалась необычайно высокой стоимостью. В настоящее время более оправдано использование NGS-панели, которая включает все потенциальные гены-кандидаты. Оборудование для NGS предусматривает возможность одновременного исследования нескольких образцов — это значительно уменьшает стоимость диагностики в пересчете на одного пациента. Многие мультигенные панели формируются не столько по принципу объединенного фенотипа как такового, сколько по принадлежности генов к одному классу заболеваний. Например, некоторые диагностические NGS-наборы объединяют все гены наследственного рака — их применяют для обследования пациентов с раком молочной железы, яичника, толстой кишки и т. д. [12–14]. Технология NGS позволила идентифицировать новые гены наследственного рака. Помимо этого, значительно возросло число пациентов, обследованных при помощи мультигенных панелей. Эти работы показали,

что в целом NGS отличается большей надежностью и универсальностью по сравнению со «стандартными» методами ДНК-анализа. В научной литературе описаны случаи выявления мутаций у тех пациентов, которым не удалось поставить диагноз посредством других методов ДНК-тестирования. Особенность NGS, в отличие от секвенирования по Сэнгеру, заключается в способности выявлять крупные мутации, например делеции или дупликации экзонов.

В настоящее время в клинической диагностике используют несколько коммерческих генных панелей, предназначенных для обнаружения наследственного рака. Они, как правило, включают гены как с высокой пенетрантностью, так и среднepenетрантные. Помимо этого, разработчики NGS-наборов предлагают диагностировать не только гены с твердо доказанной медицинской значимостью, но и недавно идентифицированные гены-кандидаты. Это приводит к некоторой неопределенности толкования результатов мультигенных тестов: если выявление инактивирующих мутаций в генах *BRCA1* или *BRCA2* не вызывает затруднений в интерпретации итогов NGS, то идентификация, например, мутации в гене *BRIP1* может свидетельствовать как в пользу диагноза наследственного рака молочной железы, так и в пользу генетического дефекта с не в полной мере доказанной значимостью. Тем не менее в среднесрочной перспективе можно ожидать создания систем популяционного скрининга для определения носительства мутаций, предрасполагающих к развитию рака [4, 12, 15–17].

Другой сферой применения мультигенных тестов в онкологии является анализ соматических мутаций в опухолях. Количество известных генов-мишеней, ассоциированных с чувствительностью к тем или иным лекарственным препаратам, относительно невелико — оно измеряется в лучшем случае десятками, а при использовании максимально расширенных критериев — сотнями. Вероятность обнаружения каждого отдельного события в каждой конкретной опухоли обычно ничтожно мала: например, мутации в гене *EGFR*, характерные для карцином легкого, встречаются лишь в единичных случаях других разновидностей новообразований. Однако если соединить все перспективные для выбора лечения генные мутации в едином пуле и подвергнуть анализу всех пациентов, то число индивидуумов, у которых удастся выявить мишень для терапии [18–23], будет значимо. Разработка мультигенных панелей для диагностики определенных мутаций представляет нетривиальную

задачу. Значительное количество предиктивных мутаций приходится на транслокации с варьирующими точками разрыва. В качестве примера можно привести перестройки в генах *ALK*, *ROS1*, *NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3* и т. д. Для идентификации подобных событий необходимо секвенировать интроны на матрице ДНК, а также проанализировать последовательности РНК (кДНК). Еще большей проблемой является интерпретация результатов. Если достаточно частые мутации, например внутригенные делеции экзона 19 в гене *EGFR* или замены в кодоне 600 гена *BRAF*, обладают очевидной предиктивной значимостью, многие другие события, в частности редкие аминокислотные замены, далеко не всегда ассоциированы с особенностями лекарственной чувствительности опухоли [4, 21–25]. Помимо анализа индивидуальных мутаций определенную ценность может представлять примерная оценка общего количества соматических событий. Большое количество соматических генных нарушений ассоциировано с увеличенной антигенностью опухоли и, следовательно, с более высокой вероятностью ответа на иммунную терапию [26]. В мире существует несколько сервисов, специализирующихся на NGS-анализе опухолей. Они не только выполняют само NGS-исследование, но и интерпретируют его результаты. Опубликованы работы, оценивающие клиническую эффективность терапии, назначенной на основании данных мультигенного секвенирования. В целом подобный подход позволяет добиться положительного эффекта у отдельных пациентов [27–29].

Мониторинг молекулярного портрета опухоли в процессе лечения

Практически вся клиническая онкология базируется на однократном анализе опухолевой ткани, который производят в самом начале лечения. Подобный подход крайне уязвим: современные исследования показывают, что опухоль значительно видоизменяет свои характеристики в процессе терапии. Эти изменения критически отражаются на спектре лекарственной чувствительности новообразования. Механизмы приобретенной резистентности к лекарственной терапии делят на две группы. Существуют общие закономерности адаптации опухоли к терапевтическому воздействию. Например, в трансформированных клетках могут активироваться ионные каналы, через внешнюю мембрану которых происходит экскреция лекарственных препаратов. Во многих опухолях в процессе терапии наблюдается частичная инактивация процессов апоптоза,

что снижает чувствительность новообразования к лекарственному воздействию [30, 31]. Другая группа способов «привыкания» к терапии подразумевает перепрограммирование специфических сигнальных путей, на который воздействует лекарственный препарат. Например, конформационной модификации может подвергаться сама молекулярная мишень, на поражение которой направлен терапевтический ингибитор. Клетки могут приобретать резистентность к таргетной терапии посредством активации коллатеральных сигнальных каскадов. В некоторых случаях формируется клон опухоли, утративший зависимость от той драйверной мутации, которая изначально сыграла ключевую роль в патогенезе новообразования [30, 31]. Эволюция неоплазмы в процессе лечения происходит необычайно быстро — иногда полная трансформация биологических свойств карциномы занимает всего несколько недель. По-видимому, во многих случаях подобный процесс связан с селекцией предсуществующих клеток, которые резистентны к терапии [32]. В других ситуациях адаптация к терапевтическим воздействиям осуществляется посредством возникновения новых эпигенетических или эпигенетических событий.

Вне зависимости от сценария, по которому опухоль ускользает от системного лечения, следует признать, что терапия не может основываться лишь на анализе первичного новообразования — представляется крайне необходимым постоянно следить за динамикой свойств опухоли на протяжении всей истории болезни [30]. Необходимо учитывать, что уже в настоящее время существует целый ряд алгоритмов назначения лечения в зависимости от изменений молекулярного портрета опухоли. В ходе эндокринной или HER2-специфической терапии при раке молочной железы может меняться статус соответствующих рецепторов, что делает нецелесообразным продолжение приема таргетного средства. Лечение ингибиторами ароматазы иногда приводит к активации онкогена *HER2* посредством точечной мутации — соответственно, для подобной изоформы HER2-рецептора необходимы эффективные препараты [33, 34]. Лечение гефитинибом или эрлотинибом опухолей легкого примерно в половине случаев сопровождается появлением мутации T790M в гене, кодирующем рецептор эпидермального фактора роста (EGFR). Для инактивации T790M-мутированного белка EGFR разработан специальный препарат — осимертиниб [35]. Наиболее наглядным примером повторного анализа опухоли в процессе лечения является исследование операционного материала, полученного после неoadъювант-

ной терапии. В данном случае пациенты не подвергаются отдельным интервенционным мероприятиям, направленным на получение репрезентативных фрагментов новообразования. Куда более сложной представляется задача мониторинга метастатических очагов карцином, которые служат объектом для воздействия системной терапии на протяжении длительных промежутков времени. В некоторых случаях, например при таргетной терапии рака легкого, допускается выполнение серийных биопсий [36–38]. Эти инвазивные процедуры сопряжены со значительными рисками для пациента и высокой нагрузкой на систему здравоохранения в целом. Существенно, что в большинстве случаев прогрессирование заболевания сопровождается появлением нескольких метастатических очагов, при этом каждый из них может иметь собственную траекторию молекулярной эволюции. Выполнение серийных биопсий всех опухолевых узлов представляется абсолютно неприемлемым сценарием обследования больного. Значительные усилия направлены на разработку методов неинвазивного мониторинга биологического статуса новообразования [30].

Большую известность получила технология так называемой жидкостной биопсии. Известно, что у онкологических пациентов в периферической крови и других жидкостях могут содержаться фрагменты опухоли — циркулирующие трансформированные клетки, опухолеспецифические (тканеспецифические) белки, фрагменты ДНК, микроРНК и т. д. Анализ опухолеспецифических последовательностей ДНК — наиболее перспективная технологическая платформа для жидкостной биопсии, так как многие молекулярно-генетические методики — полимеразная цепная реакция, NGS и т. д. — позволяют выявлять единичную мутированную копию гена в присутствии избытка нормальной ДНК. Серийный анализ образцов плазмы не вызывает затруднений для пациента. Считается, что жидкостная биопсия позволяет получить интегральное представление о биологическом статусе всех опухолевых очагов, присутствующих в организме [39–41]. В настоящее время жидкостная биопсия уже используется в практической онкологии для анализа мутаций EGFR T790M у пациентов, получающих лечение гефитинибом, эрлотинибом или афатинибом. На основе результатов данного теста принимают решение о целесообразности назначения ингибитора EGFR третьего поколения — препарата осимертиниба [42, 43]. Ожидается, что в среднесрочной перспективе сфера использования жидкостной биопсии заметно расширится.

Персонализированные *ex vivo* модели опухолей

Этот раздел целесообразно начать с примера, отражающего современные подходы к лечению инфекционных заболеваний. В настоящее время рутинным способом обследования пациентов с признаками инфекции является посев. Эта процедура позволяет не только установить спектр патогенных микроорганизмов, но и выполнить тесты на их чувствительность к антибиотикам. Примерно такой же по своей идее подход может применяться по отношению к онкологическим пациентам. Существуют методы культивирования опухолевых клеток *ex vivo*. Подобная технология, по крайней мере в теории, может позволить выполнить ряд тестов, направленных на персонализированный подбор противоопухолевой терапии [44]. Получение *ex vivo* индивидуальных клонов опухолей — достаточно сложный процесс. Наиболее простым подходом считается культивирование опухолевых клеток *in vitro*. В подавляющем большинстве случаев эти клетки прекращают деление уже в течение нескольких пассажей, поэтому многие тесты ориентированы преимущественно на работу с так называемыми краткосрочными культурами. Для отдельных пациентов удается получить так называемую долгосрочную культуру — как правило, это связано с тем, что при пассировании опухолевых клеток происходят дополнительные генетические события, обеспечивающие иммортализацию клеточной линии. Существует огромное количество различных лабораторных приемов для повышения эффективности процесса получения клеточных культур. Они включают использование различных питательных средств, вспомогательных факторов роста, биохимических добавок, подложек и т. д. Тем не менее многие разновидности новообразований с трудом подвергаются перевивке в культуру — в наибольшей мере это ограничение присуще карциномам с относительно благоприятным течением, в частности опухолям молочной железы, новообразованиям простаты и т. д. [44–47].

В развитых странах появились исследовательские программы, которые направлены на получение ксенографтов от каждого онкологического пациента. В этом случае фрагмент опухоли трансплантируется иммунодефицитным мышам. В общем эффективность получения опухолевых клонов при перевивке животным выше по сравнению с попытками получения клеточных культур. По-видимому, это связано с тем, что живые организмы обеспечивают более благоприятные условия для

поддержания жизнеспособности пересаженных клеток [46, 48, 49]. Опухолевые клеточные линии и ксенографты, как правило, сохраняют драйверные мутации, которые послужили причиной злокачественной трансформации. Соответственно, индивидуализированные опухолевые модели отражают способность первичной опухоли отвечать, например, на терапию ингибиторами мутированных киназ. Однако, если принимать во внимание более интегральные биологические характеристики новообразований, вопрос о потенциальной медицинской информативности индивидуальных *ex vivo* моделей остается нерешенным. В ходе перевивки «приживается» только отдельный клон опухолевых клеток, который может не в полной мере отражать все особенности исходного новообразования. Помимо этого, как упоминалось выше, в процессе выращивания опухолевых клеток *ex vivo* используют довольно большое количество мощных биологически активных веществ. Эти манипуляции наверняка приводят к видоизменению многих существенных компонентов жизнедеятельности неоплазм. Следует помнить, что противоопухолевая терапия действует на фоне функционирующей системы иммунитета: не в полной мере очевидно, насколько манипуляции с клеточными культурами или иммунодефицитными мышами могут адекватно отражать особенности взаимодействий между опухолевыми клетками и лекарственными препаратами в условиях живого организма [44].

Дополнительная информация

Благодарности. Данная работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты № 17-00-00171, 18-515-45012 и 19-515-25001).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9).
- Garraway Levi A, Lander Eric S. Lessons from the cancer genome. *Cell*. 2013;153(1):17-37. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.002>.
- Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339(6127):1546-1558. <https://doi.org/10.1126/science.1235122>.
- Sokolenko AP, Imyanitev EN. Molecular diagnostics in clinical oncology. *Front Mol Biosci*. 2018;5. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00076>.
- Thavaneswaran S, Rath E, Tucker K, et al. Therapeutic implications of germline genetic findings in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019;16(6):386-396. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0179-3>.
- Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*. 2017;550(7676):345-353. <https://doi.org/10.1038/nature24286>.
- Morganti S, Tarantino P, Ferraro E, et al. Next Generation Sequencing (NGS): a revolutionary technology in pharmacogenomics and personalized medicine in cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1168:9-30. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24100-1_2.
- Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018;359(6371):91-97. <https://doi.org/10.1126/science.aan3706>.
- Zitvogel L, Ma Y, Raoult D, et al. The microbiome in cancer immunotherapy: Diagnostic tools and therapeutic strategies. *Science*. 2018;359(6382):1366-1370. <https://doi.org/10.1126/science.aar6918>.
- Cohen JD, Li L, Wang Y, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science*. 2018;359(6378):926-930. <https://doi.org/10.1126/science.aar3247>.
- Adams DR, Eng CM. Next-generation sequencing to diagnose suspected genetic disorders. *N Engl J Med*. 2018;379(14):1353-1362. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1711801>.
- Easton DF, Pharoah PD, Antoniou AC, et al. Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk. *N Engl J Med*. 2015;372(23):2243-2257. <https://doi.org/10.1056/NEJMsr1501341>.
- Schrader KA, Cheng DT, Joseph V, et al. Germline variants in targeted tumor sequencing using matched normal DNA. *JAMA Oncol*. 2016;2(1):104-111. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.5208>.
- Mandelker D, Zhang L, Kemel Y, et al. Mutation detection in patients with advanced cancer by universal sequencing of cancer-related genes in tumor and normal DNA vs guideline-based germline testing. *JAMA*. 2017;318(9):825-835. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.11137>.
- Sokolenko AP, Suspitsin EN, Kuligina E, et al. Identification of novel hereditary cancer genes by whole exome sequencing. *Cancer Lett*. 2015;369(2):274-288. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.09.014>.
- Sokolenko A, Imyanitev E. Multigene testing for breast cancer risk assessment: an illusion of added clinical value. *Chin Clin Oncol*. 2017;6(2):15. <https://doi.org/10.21037/cco.2017.03.02>.
- Colas C, Golmard L, de Pauw A, et al. "Decoding hereditary breast cancer" benefits and questions from multigene panel testing. *Breast*. 2019;45:29-35. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2019.01.002>.

18. Hyman DM, Taylor BS, Baselga J. Implementing genome-driven oncology. *Cell*. 2017;168(4):584-599. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.015>.
19. Khot'skaya YB, Mills GB, Mills Shaw KR. Next-Generation sequencing and result interpretation in clinical oncology: challenges of personalized cancer therapy. *Annu Rev Med*. 2017;68:113-125. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-102115-021556>.
20. Sabour L, Sabour M, Ghorbian S. Clinical applications of next-generation sequencing in cancer diagnosis. *Pathol Oncol Res*. 2017;23(2):225-234. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0124-z>.
21. Schwartzberg L, Kim ES, Liu D, Schrag D. Precision oncology: who, how, what, when, and when not? *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2017;37:160-169. https://doi.org/10.14694/EDBK_174176.
22. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(6):353-365. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0002-6>.
23. Nangalia J, Campbell PJ. Genome sequencing during a patient's journey through cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(22):2145-2156. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1910138>.
24. Winters JL, Davila JI, McDonald AM, et al. Development and verification of an RNA sequencing (RNA-Seq) assay for the detection of gene fusions in tumors. *J Mol Diagn*. 2018;20(4):495-511. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2018.03.007>.
25. Kirchner M, Neumann O, Volckmar AL, et al. RNA-based detection of gene fusions in formalin-fixed and paraffin-embedded solid cancer samples. *Cancers (Basel)*. 2019;11(9). <https://doi.org/10.3390/cancers11091309>.
26. Melendez B, Van Campenhout C, Rorive S, et al. Methods of measurement for tumor mutational burden in tumor tissue. *Transl Lung Cancer Res*. 2018;7(6):661-667. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2018.08.02>.
27. Massard C, Michiels S, Ferte C, et al. High-throughput genomics and clinical outcome in hard-to-treat advanced cancers: results of the MOSCATO 01 trial. *Cancer Discov*. 2017;7(6):586-595. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-1396>.
28. Rodon J, Soria JC, Berger R, et al. Genomic and transcriptomic profiling expands precision cancer medicine: the WINTHER trial. *Nat Med*. 2019;25(5):751-758. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0424-4>.
29. Sicklick JK, Kato S, Okamura R, et al. Molecular profiling of cancer patients enables personalized combination therapy: the I-PREDICT study. *Nat Med*. 2019;25(5):744-750. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0407-5>.
30. Aleksakhina SN, Kashyap A, Imyanitov EN. Mechanisms of acquired tumor drug resistance. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019;1872(2):188310. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.188310>.
31. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature*. 2019;575(7782):299-309. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1>.
32. Sokolenko AP, Savonevich EL, Ivantsov AO, et al. Rapid selection of BRCA1-proficient tumor cells during neoadjuvant therapy for ovarian cancer in BRCA1 mutation carriers. *Cancer Lett*. 2017;397:127-132. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.03.036>.
33. Nayar U, Cohen O, Kapstad C, et al. Acquired HER2 mutations in ER(+) metastatic breast cancer confer resistance to estrogen receptor-directed therapies. *Nat Genet*. 2019;51(2):207-216. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0287-5>.
34. Razavi P, Chang MT, Xu G, et al. The genomic landscape of endocrine-resistant advanced breast cancers. *Cancer Cell*. 2018;34(3):427-438 e426. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.08.008>.
35. Remon J, Steuer CE, Ramalingam SS, Felip E. Osimertinib and other third-generation EGFR TKI in EGFR-mutant NSCLC patients. *Ann Oncol*. 2018;29(suppl_1):i20-i27. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx704>.
36. Janne PA, Yang JC, Kim DW, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(18):1689-1699. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411817>.
37. Oxnard GR, Thress KS, Alden RS, et al. Association between plasma genotyping and outcomes of treatment with osimertinib (AZD9291) in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34(28):3375-3382. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.66.7162>.
38. Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, et al. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-Positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2017;376(7):629-640. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1612674>.
39. Mader S, Pantel K. Liquid biopsy: current status and future perspectives. *Oncol Res Treat*. 2017;40(7-8):404-408. <https://doi.org/10.1159/000478018>.
40. Geerickx E, Hendrix A. Targets, pitfalls and reference materials for liquid biopsy tests in cancer diagnostics. *Mol Aspects Med*. 2019;100828. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.10.005>.
41. Rossi G, Ignatiadis M. Promises and pitfalls of using liquid biopsy for precision medicine. *Cancer Res*. 2019;79(11):2798-2804. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3402>.
42. Canale M, Pasini L, Bronte G, et al. Role of liquid biopsy in oncogene-addicted non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2019;8(Suppl 3):S265-S279. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.09.15>.
43. Rijavec E, Coco S, Genova C, et al. Liquid biopsy in non-small cell lung cancer: highlights and challenges. *Cancers (Basel)*. 2019;12(1). <https://doi.org/10.3390/cancers12010017>.
44. Klinghammer K, Walther W, Hoffmann J. Choosing wisely — preclinical test models in the era of precision medicine. *Cancer Treat Rev*. 2017;55:36-45. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.02.009>.
45. Clevers H. Modeling development and disease with organoids. *Cell*. 2016;165(7):1586-1597. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.082>.

46. Pauli C, Hopkins BD, Prandi D, et al. Personalized *in vitro* and *in vivo* cancer models to guide precision medicine. *Cancer Discov.* 2017;7(5):462-477. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-1154>.
47. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer.* 2018;18(7):407-418. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0007-6>.
48. Wakefield CE, Doolan EL, Fardell JE, et al. The avatar acceptability study: survivor, parent and community willingness to use patient-derived xenografts to personalize cancer care. *EBioMedicine.* 2018;37:205-213. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.10.060>.
49. Bleijs M, Wetering M, Clevers H, Drost J. Xenograft and organoid model systems in cancer research. *EMBO J.* 2019;38(15). <https://doi.org/10.15252/embj.2019101654>.

Сведения об авторе / Information about the author

Евгений Наумович Имянитов — д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель отдела биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; заведующий кафедрой общей и молекулярной медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>. SPIN-код: 1909-7323. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru.

Evgeny Imyanitov — Professor, Corresponding member of the Russian Academy of Science, Head of the Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov Institute of Oncology; Head of the Department of Medical Genetics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>. SPIN-code: 1909-7323. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru.